



**ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21)(22) Заявка: 2013113028/15, 22.03.2013

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
22.03.2013

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 22.03.2013

(45) Опубликовано: 10.11.2014 Бюл. № 31

(56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: RU 2235998 C2, 10.09.2004. RU 2263904 C2, 10.11.2005. WO9613193 A2, 09.05.1996. US 6177260 B1, 23.01.2001. Герасимова Е.Л. Потенциометрия в исследовании антиоксидантной активности биологических объектов. Автореферат диссертации, 2010. найдено из Интернет 20.01.2014, (см. прод.)

Адрес для переписки:

620002, г.Екатеринбург, К-2, Мира, 19, УрФУ,
центр интеллектуальной собственности, Маркс
Татьяне Владимировне

(72) Автор(ы):

Иванова Алла Владимировна (RU),
Герасимова Елена Леонидовна (RU),
Кравец Ирина Анатольевна (RU),
Матерн Анатолий Иванович (RU)

(73) Патентообладатель(и):

Федеральное государственное автономное
образовательное учреждение высшего
профессионального образования "Уральский
федеральный университет имени первого
Президента России Б.Н. Ельцина" (RU)

**(54) СПОСОБ ПОТЕНЦИОМЕТРИЧЕСКОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ АНТИОКСИДАНТНОЙ/
ОКСИДАНТНОЙ АКТИВНОСТИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ КОМПЛЕКСОВ МЕТАЛЛОВ**

(57) Реферат:

Изобретение относится к области электрохимических методов анализа, в частности к анализу растворов на предмет определения суммарной антиоксидантной/оксидантной активности. Изобретение может быть использовано в исследовательских лабораториях, пищевой промышленности, медицине для определения антиоксидантной/оксидантной активности природных, синтетических и биологических объектов для исследования антиоксидантных/оксидантных свойств веществ и продуктов, контроля состава пищевых продуктов, диагностики заболеваний. Сущность заявляемого способа заключается в том, что

определение антиоксидантной/оксидантной активности проводят по разности потенциалов, один из которых измеряется после прохождения химической реакции между антиоксидантами/оксидантами анализируемого вещества и используемым реагентом, а второй - после следующей добавки раствора реагента или анализируемого вещества. Изобретение обеспечивает повышение точности, достоверности и воспроизводимости результатов, увеличение экспрессности анализа, расширение круга анализируемых веществ, используемых реагентов и растворителей. 2 з.п. ф-лы, 6 ил., 6 пр.

(56) (продолжение):

<http://www.dissercat.com/content/potentsiometriya-v-issledovanii-antioksidantnoi-aktivnosti-biologicheskikh-obektov>



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(19) **RU** (11) **2 532 406** (13) **C1**

(51) Int. Cl.
G01N 27/26 (2006.01)

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(21)(22) Application: **2013113028/15, 22.03.2013**

(24) Effective date for property rights:
22.03.2013

Priority:

(22) Date of filing: **22.03.2013**

(45) Date of publication: **10.11.2014** Bull. № 31

Mail address:

**620002, g.Ekaterinburg, K-2, Mira, 19, UrFU, tsentr
intellektual'noj sobstvennosti, Marks Tat'jane
Vladimirovne**

(72) Inventor(s):

**Ivanova Alla Vladimirovna (RU),
Gerasimova Elena Leonidovna (RU),
Kravets Irina Anatol'evna (RU),
Matern Anatolij Ivanovich (RU)**

(73) Proprietor(s):

**Federal'noe gosudarstvennoe avtonomnoe
obrazovatel'noe uchrezhdenie vysshego
professional'nogo obrazovanija "Ural'skij
federal'nyj universitet imeni pervogo Prezidenta
Rossii B.N. El'tsina" (RU)**

(54) **METHOD OF POTENTIOMETRIC DETERMINATION OF ANTIOXIDANT/OXIDANT ACTIVITY WITH APPLICATION OF METAL COMPLEXES**

(57) Abstract:

FIELD: chemistry.

SUBSTANCE: invention relates to the field of electrochemical methods of analysis, in particular to the analysis of solutions to determine the total antioxidant/oxidant activity. The invention can be used in research laboratories, food industry, medicine to determine the antioxidant/oxidant activity of natural, synthetic and biological objects to study antioxidant/oxidant properties of substances and products, control the composition of food products, and diagnose diseases. The essence of the claimed method consists in the following: determination of the antioxidant/

oxidant activity is carried out by a difference of potentials, one of which is measured after the realisation of a chemical reaction between antioxidants/oxidants of an analysed substance and an applied agent, and the second one - after the following addition of a solution of a reagent or the analysed substance.

EFFECT: invention provides an increase of accuracy, reliability and reproducibility of results, increase of the analysis expression, extension of the range of analysed substances, applied reagents and solvents.

3 cl, 6 dwg, 6 ex

Изобретение относится к области электрохимических методов анализа, в частности к анализу растворов на предмет определения суммарной антиоксидантной/оксидантной активности.

Известен способ количественного определения оксидантов и/или антиоксидантов в коже [Международная публикация WO/1996/013193], заключающийся в определении потенциала тестового раствора, содержащего FeCl_3 или комплекс ADP-Fe(III) для определения антиоксидантов и систему I_2/NaI для определения оксидантов, введенного в контакт с кожей.

К недостаткам данного способа можно отнести то, что в тестовом растворе используются только водные среды, что не позволяет анализировать широкий круг важных органических антиоксидантов и оксидантов. Кроме того, используется кислый раствор ($\text{pH}=2$), что не моделирует реальные процессы, происходящие в организме в нейтральной среде. Измеряется только одно значение потенциала, которое зависит от множества факторов и не дает достоверной информации о количестве антиоксидантов/оксидантов, т.к. не учитывается исходное состояние системы. Также результат измерения выражают в виде потенциала. Не оценивается собственно величина оксидантной и/или антиоксидантной активности, что усложняет интерпретацию получаемых результатов. Также использование системы I_2/NaI снижает достоверность получаемых результатов из-за повышенной летучести I_2 .

Известен способ определения антиоксидантов в растворе [Международная публикация US 6177260 B1], основанный на использовании в качестве окислителя комплекса Fe(III)-трипиридилтриамина, который при взаимодействии с антиоксидантами восстанавливается до Fe(II)-трипиридилтриамина, окрашенного в синий цвет (максимум поглощения при 593 нм).

Недостатком этого способа является то, что метод является не чувствительным к сульфгидрильным SH-содержащим антиоксидантам, таким как глутатион и цистеин, являющимся одним из основных звеньев антиоксидантной системы защиты организма, поэтому метод не позволяет оценить суммарное содержание антиоксидантов в исследуемом объекте. Кроме того, в способе используется также кислый раствор, что не моделирует реальные процессы, происходящие в организме в нейтральной среде.

Наиболее близким решением служит способ определения оксидантной/антиоксидантной активности растворов (RU 2235998), заключающийся в том, что предварительно готовят исходный раствор, в который вводят медиаторную систему, содержащую одновременно окисленную и восстановленную формы реагента, а оценку оксидантной/антиоксидантной активности проводят по изменению окислительно-восстановительного потенциала раствора, определенного до и после введения в исходный раствор анализируемого вещества.

К недостаткам данного способа можно отнести то, что в данном способе в качестве медиаторной системы могут быть Ox/Red пары химических элементов или соединений. Использование одновременно двух форм системы существенно усложняет выбор компонентов медиаторной системы, которые необходимо варьировать в зависимости от круга анализируемых соединений, особенно в апротонных средах для анализа органических соединений. Кроме того, при предложенном алгоритме не учитывается влияние матрицы изучаемого объекта на изменение потенциала системы. Также в данном способе в органических растворителях предлагается применять систему ферроцен/феррициний, использование которой несмотря на хорошую обратимость крайне затруднительно из-за неустойчивости ионов феррициния. И как было отмечено,

использование системы I₂/Г снижает точность получаемых результатов.

Задачей, решаемой данным изобретением, служит повышение точности, достоверности и воспроизводимости результатов, увеличение экспрессности анализа, расширение круга используемых реагентов и растворителей, анализируемых веществ.

Задача решается тем, что в качестве реагента используют только одну окисленную или восстановленную форму металла в составе комплексного соединения. Таким образом, расширяется круг используемых реагентов и круг исследуемых объектов в различных растворителях. Благодаря тому, что концентрация исходного раствора окисленной/восстановленной формы значительно больше концентрации антиоксидантов/оксидантов в исследуемом образце, химическая реакция протекает быстро и устанавливается равновесие между избытком окисленной/восстановленной формы металла в составе комплексного соединения и образовавшейся восстановленной/окисленной формой комплекса металла. За счет быстрого протекания реакции и быстрого установления равновесия в растворе увеличивается экспрессность анализа. Измерение потенциала проводится после прохождения химической реакции между антиоксидантами/оксидантами анализируемого вещества и используемым реагентом и последующей добавки раствора реагента или анализируемого вещества, что также приводит к увеличению экспрессности анализа. Анализ проводится путем введения двух последовательных добавок сначала анализируемого вещества в раствор реагента, а затем добавки также раствора анализируемого вещества или реагента. Таким образом, это позволяет учесть влияние матрицы сложных объектов на изменение потенциала и повысить воспроизводимость, точность, достоверность. Также в случае второй добавки реагента, а не анализируемого вещества, значительно экономится объем исследуемого объекта в тех случаях, когда это необходимо.

Сущность заявляемого способа заключается в том, что определение антиоксидантной/оксидантной активности проводят по разности потенциалов, один из которых измеряется после прохождения химической реакции между антиоксидантами/оксидантами анализируемого вещества и используемым реагентом, а второй - после следующей добавки реагента или анализируемого вещества.

В качестве реагента может быть использована окисленная форма металла в составе комплексного соединения. В этом случае антиоксиданты в составе анализируемого вещества реагируют с окисленной формой реагента. Определение проводят по двукратной добавке анализируемого вещества. Антиоксидантную активность в этом случае рассчитывают по формуле:

$$AOA = \frac{C(h - \alpha_{AOA})}{h \cdot (1 - \alpha_{AOA})},$$

где AOA - антиоксидантная активность, М-экв;

C - концентрация окисленной формы реагента в исходном растворе, М;

$$\alpha_{AOA} = 10^{(E_1 - E_2) \cdot n \cdot F / R \cdot T \cdot 2,303}$$

E₁ - потенциал, измеренный после введения первой добавки раствора анализируемого вещества, В;

E₂ - потенциал, измеренный после введения второй добавки раствора анализируемого вещества, В;

h - отношение общего объема добавленного раствора к объему первой добавки раствора.

Если объем анализируемого вещества ограничен, определение проводят по

однократной добавке анализируемого вещества и последующей добавке реагента. Антиоксидантную активность в этом случае рассчитывают по формуле:

$$AOA = \frac{C \cdot (1 - \alpha_{AOA}) - \alpha_{AOA} \cdot C' \cdot h}{(1 - \alpha_{AOA})},$$

где AOA - антиоксидантная активность, М-экв;

C - концентрация окисленной формы реагента в исходном растворе, М;

$$\alpha_{AOA} = 10^{(E_1 - E_2) \cdot n \cdot F / R \cdot T \cdot 2,203}$$

E₁ - потенциал, измеренный после введения добавки раствора анализируемого вещества, В;

E₂ - потенциал, измеренный после введения добавки раствора окисленной формы реагента, В;

C' - концентрация окисленной формы реагента во второй добавке, М;

h - отношение объема второй добавки к общему объему раствора.

В качестве реагента может быть использована восстановленная форма металла в составе комплексного соединения. В этом случае оксиданты в составе анализируемого вещества реагируют с восстановленной формой реагента. Определение проводят по двукратной добавке анализируемого вещества. Оксидантную активность рассчитывают по формуле:

$$OA = \frac{C(h - \alpha_{OA})}{h \cdot (1 - \alpha_{OA})},$$

где OA - оксидантная активность, М-экв;

C - концентрация восстановленной формы реагента в исходном растворе, М;

$$\alpha_{OA} = 10^{(E_1 - E_2) \cdot n \cdot F / R \cdot T \cdot 2,303}$$

E₁ - потенциал, измеренный после введения первой добавки раствора анализируемого вещества, В;

E₂ - потенциал, измеренный после введения второй добавки раствора анализируемого вещества, В;

h - отношение общего объема добавленного раствора к объему первой добавки раствора.

Если объем анализируемого вещества ограничен, то определение проводят по однократной добавке анализируемого вещества и последующей добавке реагента. Оксидантную активность в этом случае рассчитывают по формуле:

$$OA = \frac{C \cdot (1 - \alpha_{OA}) - \alpha_{OA} \cdot C' \cdot h}{(1 - \alpha_{OA})},$$

где OA - оксидантная активность, М-экв;

C - концентрация восстановленной формы реагента в исходном растворе, М;

$$\alpha_{OA} = 10^{(E_1 - E_2) \cdot n \cdot F / R \cdot T \cdot 2,303}$$

E₁ - потенциал, измеренный после введения добавки раствора анализируемого вещества, В;

E₂ - потенциал, измеренный после введения добавки раствора восстановленной формы реагента, В;

C' - концентрация восстановленной формы реагента во второй добавке, М;

h - отношение объема второй добавки к общему объему раствора.

Таким образом, в обобщенном виде антиоксидантную/оксидантную активность рассчитывают по формулам:

1) по двукратной добавке анализируемого вещества:

$$5 \quad AOA/OA = \frac{C(h - \alpha_{AOA}/\alpha_{OA})}{h \cdot (1 - \alpha_{AOA}/\alpha_{OA})},$$

где AOA - антиоксидантная активность, М-экв;

OA - оксидантная активность, М-экв;

C - концентрация окисленной/восстановленной формы реагента в исходном растворе,

10 М;

$$\alpha_{AOA} = 10^{(E_1 - E_2) \cdot n \cdot F / R \cdot T \cdot 2,303}$$

$$\alpha_{OA} = 10^{(E_2 - E_1) \cdot n \cdot F / R \cdot T \cdot 2,303}$$

15 E_1 - потенциал, измеренный после введения первой добавки раствора анализируемого вещества, В;

E_2 - потенциал, измеренный после введения второй добавки раствора анализируемого вещества, В;

h - отношение общего объема добавленного раствора к объему первой добавки раствора;

20 2) по однократной добавке анализируемого вещества и последующей добавке реагента

$$AOA/OA = \frac{C \cdot (1 - \alpha_{AOA}/\alpha_{OA}) - \alpha_{AOA}/\alpha_{OA} \cdot C' \cdot h}{(1 - \alpha_{AOA}/\alpha_{OA})},$$

25 где AOA - антиоксидантная активность, М-экв;

OA - оксидантная активность, М-экв;

C - концентрация окисленной/восстановленной формы реагента в исходном растворе, М;

$$30 \quad \alpha_{AOA} = 10^{(E_1 - E_2) \cdot n \cdot F / R \cdot T \cdot 2,303}$$

$$\alpha_{OA} = 10^{(E_2 - E_1) \cdot n \cdot F / R \cdot T \cdot 2,303}$$

E_1 - потенциал, измеренный после введения добавки раствора анализируемого вещества, В;

35 E_2 - потенциал, измеренный после введения добавки раствора окисленной формы реагента, В;

C - концентрация окисленной/восстановленной формы реагента во второй добавке, М;

h - отношение объема второй добавки к общему объему раствора.

40 В качестве реагентов могут быть использованы комплексные соединения металлов переменной валентности с неорганическими лигандами, например $K_3[Fe(CN)_6]$, $K_4[Fe(CN)_6]$, $K_3[Mn(CN)_6]$, $K_4[Mn(CN)_6]$, $K_3[Mo(CN)_8]$, $K_4[Mo(CN)_8]$, $[Fe(SCN)_3]$, $[Fe(SCN)_2]$, также комплексные соли металлов переменной валентности с органическими лигандами, например тетраэтиламмония гексацианоферрат (III), тетраэтиламмония гексацианоферрат (II), тетрабутиламмония гексацианоманганат (III), тетраэтиламмония тетрахлороферрат (III), тетраэтиламмония тетрахлороферрат (II), Fe(II)-PDT, Fe(II)-TPTZ, Fe(III)-TPTZ, дикетонаты железа, никеля, кобальта. В качестве растворителей используются гидрофильные, гидрофобные и смешанные растворители.

В качестве протонных растворителей могут быть использованы вода, спирты и др., в качестве апротонных: хлороформ, ацетонитрил, гексан, ацетон и различные эфиры. Также может быть использована смесь растворителей.

Рабочий электрод может быть изготовлен из платины, золота, стеклоуглерода.

5 Электродом сравнения в водных растворах может служить стандартный хлорсеребряный электрод, в органических растворителях - двуключевой хлоридсеребряный электрод, первая емкость которого заполнена водой, содержащей хлорид-ионы, вторая емкость - органическим растворителем, например ацетонитрилом, содержащим, например, перхлорат лития или тетраэтиламмония тетрафторборат. В
10 органических средах также может быть использован электрод первого рода Ag/AgNO_3 в органическом растворителе.

Указанные отличия существенны. Использование в качестве реагента одной окисленной или восстановленной формы металла в составе комплексного соединения позволяет расширить круг используемых реагентов и круг исследуемых объектов в
15 различных растворителях. Концентрация исходного раствора окисленной/восстановленной формы значительно больше концентрации антиоксидантов/оксидантов в исследуемом образце, поэтому химическая реакция протекает быстро и устанавливается равновесие между избытком окисленной/восстановленной формы металла в составе комплексного соединения и образовавшейся восстановленной/окисленной формой
20 комплекса металла, что увеличивает экспрессность метода. Измерение потенциала проводится после прохождения химической реакции, что сокращает число измерительных стадий и также увеличивает экспрессность метода. Введение двух последовательных добавок раствора анализируемого вещества существенно повышает точность, достоверность и воспроизводимость результатов, что позволяет анализировать
25 различные объекты со сложной матрицей.

В настоящее время из патентной и научно-технической литературы не известен способ определения антиоксидантной/оксидантной активности в заявляемой совокупности признаков.

30 На фиг.1 представлена зависимость потенциала от времени при добавлении к $[\text{Fe}(\text{SCN})_3]$ двух добавок аскорбиновой кислоты в водной среде.

На фиг.2 представлена зависимость потенциала от времени при добавлении к $[\text{Fe}(\text{SCN})_2]$ двух добавок пероксида водорода в водной среде.

35 На фиг.3 представлена зависимость потенциала от времени при добавлении к $[\text{Fe}(\text{SCN})_3]$ аскорбиновой кислоты и последующей добавки $[\text{Fe}(\text{SCN})_3]$.

На фиг.4 представлена зависимость потенциала от времени при добавлении к $[\text{Fe}(\text{SCN})_3]$ зеленого чая и последующей добавки $[\text{Fe}(\text{SCN})_3]$.

40 На фиг.5 представлена зависимость потенциала от времени при добавлении к $[\text{Fe}(\text{SCN})_3]$ в хлороформе двух добавок раствора токоферола в хлороформе (электролит: 0,05М тетраэтиламмония тетрафторборат).

На фиг.6 представлена зависимость потенциала от времени при добавлении к $[\text{Fe}(\text{SCN})_3]$ в хлороформе двух добавок нерафинированного подсолнечного масла (электролит: 0,05М тетраэтиламмония тетрафторборат).

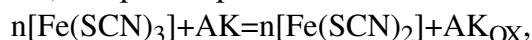
45 Способ иллюстрируется следующими примерами.

Пример 1

В 1 мл водного раствора, содержащего 0,01М $[\text{Fe}(\text{SCN})_3]$, опускают рабочий электрод и электрод сравнения и вносят 0,075 мл 0,02М аскорбиновой кислоты. Установившееся

значение потенциала (E_1) составляет 446 мВ. Далее вносят вторую добавку 0,019 мл того же раствора аскорбиновой кислоты. Установившееся значение потенциала (E_2) составляет 412 мВ.

Изменение потенциала при этом происходит в результате протекания химической реакции в растворе:



где АК - аскорбиновая кислота, AK_{OX} - продукт окисления аскорбиновой кислоты.

Результаты измерений приведены на фиг.1. Антиоксидантную активность рассчитывают по формуле:

$$\text{AOA} = \frac{C(h - \alpha_{\text{AOA}})}{h \cdot (1 - \alpha_{\text{AOA}})},$$

где AOA - антиоксидантная активность, М-экв;

C - концентрация окисленной формы реагента $[\text{Fe}(\text{SCN})_3]$ в исходном растворе, М;

$$\alpha_{\text{AOA}} = 10^{(E_1 - E_2) \cdot n \cdot F / R \cdot T \cdot 2,303},$$

E_1 - потенциал, измеренный после введения первой добавки раствора аскорбиновой кислоты, В;

E_2 - потенциал, измеренный после введения второй добавки раствора аскорбиновой кислоты, В;

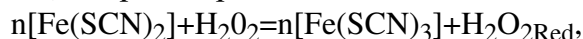
h - отношение общего объема добавленного раствора к объему первой добавки раствора.

Расчет показывает, что с учетом разбавления AOA равна 0,04 М-экв, что соответствует наличию двух функциональных групп в молекуле аскорбиновой кислоты, определяющих ее антиоксидантные свойства, т.е. n равно 2, что соответствует действительности.

Пример 2

В 1 мл водного раствора, содержащего 0,01М $[\text{Fe}(\text{SCN})_2]$, в фосфатном буферном растворе опускают рабочий электрод и электрод сравнения и вносят 0,060 мл 0,01М раствора H_2O_2 . Установившееся значение потенциала (E_1) составляет 272 мВ. Далее вносят вторую добавку 0,060 мл того же раствора H_2O_2 . Установившееся значение потенциала (E_2) составляет 298 мВ.

Изменение потенциала при этом происходит в результате протекания химической реакции в растворе:



где $\text{H}_2\text{O}_{2\text{Red}}$ - продукты восстановления пероксида водорода.

Результаты измерений приведены на фиг.2.

Оксидантную активность в этом случае рассчитывают по формуле:

$$\text{OA} = \frac{C(h - \alpha_{\text{OA}})}{h \cdot (1 - \alpha_{\text{OA}})},$$

где OA - оксидантная активность, М-экв;

C - концентрация восстановленной формы реагента $[\text{Fe}(\text{SCN})_2]$ в исходном растворе, М;

$$\alpha_{\text{OA}} = 10^{(E_1 - E_2) \cdot n \cdot F / R \cdot T \cdot 2,303},$$

E_1 - потенциал, измеренный после введения первой добавки раствора H_2O_2 , В;

E_2 - потенциал, измеренный после введения второй добавки раствора H_2O_2 , В;

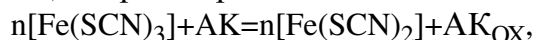
h - отношение общего объема добавленного раствора к объему первой добавки раствора.

Расчет показывает, что с учетом разбавления ОА равна 0,02 М-экв, что соответствует двухэлектронному восстановлению пероксида водорода.

Пример 3

В 5 мл водного раствора, содержащего 0,002М $[Fe(SCN)_3]$, опускают рабочий электрод и электрод сравнения и вносят 0,1 мл 0,01375М аскорбиновой кислоты. Установившееся значение потенциала (E_1) составляет 442 мВ. Далее вносят 0,04 мл 0,025М $[Fe(SCN)_3]$. Установившееся значение потенциала (E_2) составляет 464 мВ.

Изменение потенциала при этом происходит в результате протекания химической реакции в растворе:



где АК - аскорбиновая кислота, АК_{ОХ} - продукт окисления аскорбиновой кислоты.

Результаты измерений приведены на фиг.3. Антиоксидантную активность в этом случае рассчитывают по формуле:

$$AOA = \frac{C(h - \alpha_{AOA}) - \alpha_{AOA} \cdot C' \cdot h}{(1 - \alpha_{AOA})},$$

где АОА - антиоксидантная активность, М-экв;

C - концентрация окисленной формы реагента $[Fe(SCN)_3]$ в исходном растворе, М;

$$\alpha_{AOA} = 10^{(E_1 - E_2) \cdot n \cdot F / R \cdot T \cdot 2,303},$$

E_1 - потенциал, измеренный после введения добавки раствора аскорбиновой кислоты, В;

E_2 - потенциал, измеренный после введения добавки раствора окисленной формы реагента $[Fe(SCN)_3]$, В;

C - концентрация реагента $[Fe(SCN)_3]$ во второй добавке, М;

h - отношение объема второй добавки к общему объему раствора.

Расчет показывает, что АОА равна 0,027 М-экв, что соответствует наличию двух функциональных групп в молекуле аскорбиновой кислоты, определяющих ее антиоксидантные свойства, т.е. n равно 2, что соответствует действительности.

Пример 4

В 5 мл водного раствора, содержащего 0,002М $[Fe(SCN)_3]$, опускают рабочий электрод и электрод сравнения и вносят 0,1 мл зеленого чая в качестве реального объекта, содержащего антиоксиданты. Установившееся значение потенциала (E_1) составляет 431 мВ. Далее вносят 0,04 мл 0,025М $[Fe(SCN)_3]$. Установившееся значение потенциала (E_2) составляет 455 мВ.

Результаты измерений приведены на фиг.4.

Антиоксидантную активность в этом случае рассчитывают по формуле:

$$AOA = \frac{C \cdot (1 - \alpha_{AOA}) - \alpha_{AOA} \cdot C' \cdot h}{(1 - \alpha_{AOA})},$$

где АОА - антиоксидантная активность, М-экв;

С - концентрация окисленной формы реагента $[\text{Fe}(\text{SCN})_3]$ в исходном растворе, М;
 $\alpha = 10^{(E_1 - E_2) \cdot n \cdot F / R \cdot T \cdot 2,303}$;

E_1 - потенциал, измеренный после введения добавки раствора зеленого чая, В;

E_2 - потенциал, измеренный после введения добавки раствора окисленной формы реагента $[\text{Fe}(\text{SCN})_3]$, В;

С' - концентрация реагента $[\text{Fe}(\text{SCN})_3]$ во второй добавке, М;

h - отношение объема второй добавки к общему объему раствора.

Расчет показывает, что АОА равна 0,036 М-экв.

Пример 5

В 5 мл раствора, содержащего 0,01 М $[\text{Fe}(\text{SCN})_3]$ в хлороформе и тетраэтиламмония тетрафторборат в качестве электролита, опускают рабочий электрод и электрод сравнения и вносят 0,25 мл 0,060 М раствора токоферола в хлороформе. Установившееся значение потенциала (E_1) составляет 469 мВ.

Далее вносят такое же количество токоферола. Установившееся значение потенциала (E_2) составляет 438 мВ.

Изменение потенциала при этом происходит в результате протекания химической реакции в растворе:

$n[\text{Fe}(\text{SCN})_3] + \text{токоферол} = n[\text{Fe}(\text{SCN})_2] + \text{токоферол}_{\text{ОХ}}$,

где токоферол_{ОХ} - продукт окисления токоферола.

Результаты измерений приведены на фиг.5.

Антиоксидантную активность рассчитывают по формуле:

$$\text{АОА} = \frac{C(h - \alpha_{\text{АОА}})}{h \cdot (1 - \alpha_{\text{АОА}})},$$

где АОА - антиоксидантная активность, М-экв;

С - концентрация окисленной формы реагента $[\text{Fe}(\text{SCN})_3]$ в исходном растворе, М;

$\alpha_{\text{АОА}} = 10^{(E_1 - E_2) \cdot n \cdot F / R \cdot T \cdot 2,303}$;

E_1 - потенциал, измеренный после введения первой добавки раствора токоферола, В;

E_2 - потенциал, измеренный после введения второй добавки раствора токоферола, В;

h - отношение общего объема добавленного раствора к объему первой добавки раствора.

Расчет показывает, что с учетом разбавления АОА равна 0,058 М-экв, что соответствует наличию одной функциональной группы в молекуле токоферола, определяющей его антиоксидантные свойства, что соответствует действительности.

Пример 6

В 5 мл раствора, содержащего 0,001 М $[\text{Fe}(\text{SCN})_3]$ в хлороформе и тетраэтиламмония тетрафторборат в качестве электролита, опускают рабочий электрод и электрод сравнения и вносят 1 мл подсолнечного нерафинированного масла в качестве реального объекта, содержащего антиоксиданты. Установившееся значение потенциала (E_1) составляет 515 мВ. Далее вносят такое же количество нерафинированного масла. Установившееся значение потенциала (E_2) составляет 469 мВ.

Результаты измерений приведены на фиг.6.

Антиоксидантную активность рассчитывают по формуле:

$$AOA = \frac{C(h - \alpha_{AOA})}{h \cdot (1 - \alpha_{AOA})},$$

где AOA - антиоксидантная активность, М-экв;

C - концентрация окисленной формы реагента $[Fe(SCN)_3]$ в исходном растворе, М;

$$\alpha_{AOA} = 10^{(E_1 - E_2) \cdot n \cdot F / R \cdot T \cdot 2,303};$$

E_1 - потенциал, измеренный после введения первой добавки раствора

нерафинированного масла, В;

E_2 - потенциал, измеренный после введения второй добавки раствора

нерафинированного масла, В;

h - отношение общего объема добавленного раствора к объему первой добавки раствора.

Расчет показывает, что с учетом разбавления AOA равна 0,0022 М-экв.

Формула изобретения

1. Способ определения антиоксидантной/окислительной активности раствора анализируемого вещества, включающий приготовление исходного раствора комплексного соединения и оценку антиоксидантной/окислительной активности по электрохимическим параметрам раствора анализируемого вещества, отличающийся тем, что готовят исходный раствор, содержащий избыток окисленной/восстановленной формы реагента, вводят добавку раствора анализируемого вещества и измеряют окислительно-восстановительный потенциал раствора, затем вводят вторую добавку и измеряют окислительно-восстановительный потенциал раствора и в случае, если в качестве второй добавки используют раствор анализируемого вещества, то антиоксидантную/окислительную активность рассчитывают по формуле:

$$AOA/OA = \frac{C(h - \alpha_{AOA}/\alpha_{OA})}{h \cdot (1 - \alpha_{AOA}/\alpha_{OA})}$$

где

AOA - антиоксидантная активность, М-экв;

OA - окислительная активность, М-экв;

C - концентрация окисленной/восстановленной формы реагента в исходном растворе, М;

$$\alpha_{AOA} = 10^{(E_1 - E_2) \cdot n \cdot F / R \cdot T \cdot 2,303};$$

$$\alpha_{OA} = 10^{(E_2 - E_1) \cdot n \cdot F / R \cdot T \cdot 2,303};$$

E_1 - потенциал, измеренный после введения первой добавки раствора анализируемого вещества, В;

E_2 - потенциал, измеренный после введения второй добавки раствора анализируемого вещества, В;

h - отношение общего объема добавленного раствора к объему первой добавки раствора;

а в случае, если в качестве второй добавки используют раствор окисленной/

восстановленной формы реагента, то антиоксидантную/окислительную активность рассчитывают по формуле:

$$AOA/OA = \frac{C \cdot (1 - \alpha_{AOA}/\alpha_{OA}) - \alpha_{AOA}/\alpha_{OA} \cdot C' \cdot h}{(1 - \alpha_{AOA}/\alpha_{OA})}$$

где

АОА - антиоксидантная активность, М-экв;

ОА - окислительная активность, М-экв;

С - концентрация окисленной/восстановленной формы реагента в исходном растворе, М;

$$\alpha_{AOA} = 10^{(E_1 - E_2) \cdot n \cdot F / R \cdot T \cdot 2,303};$$

$$\alpha_{OA} = 10^{(E_2 - E_1) \cdot n \cdot F / R \cdot T \cdot 2,303};$$

E_1 - потенциал, измеренный после введения добавки раствора анализируемого вещества, В;

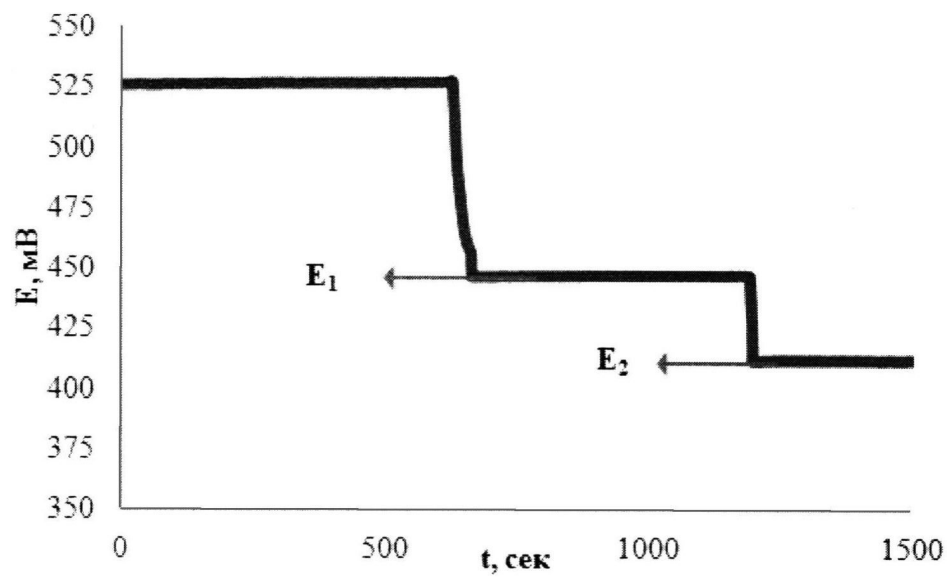
E_2 - потенциал, измеренный после введения добавки раствора окисленной формы реагента, В;

C' - концентрация окисленной/восстановленной формы реагента во второй добавке, М;

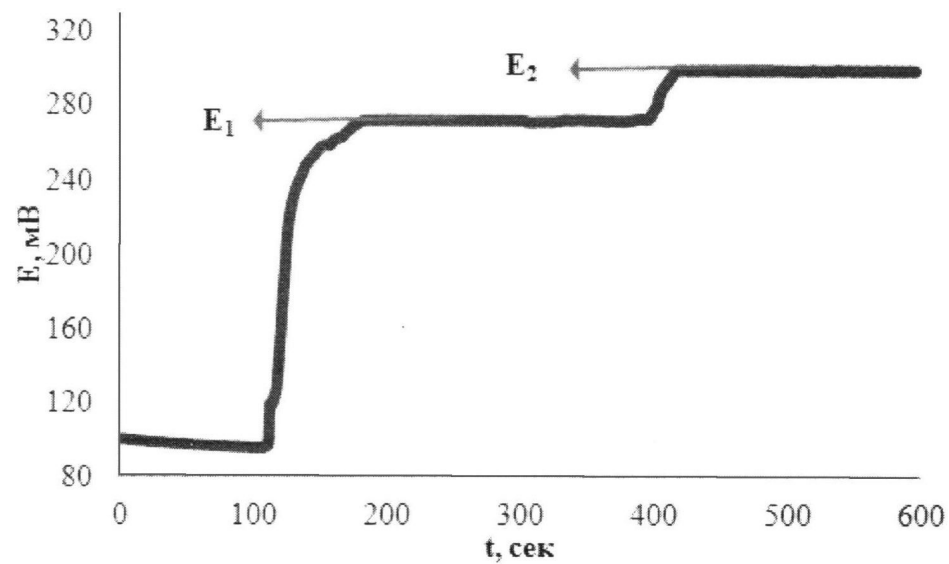
h - отношение объема второй добавки к общему объему раствора.

2. Способ по п.1, отличающийся тем, что в качестве растворителя используют воду, органические протонные и апротонные жидкости или их смесь.

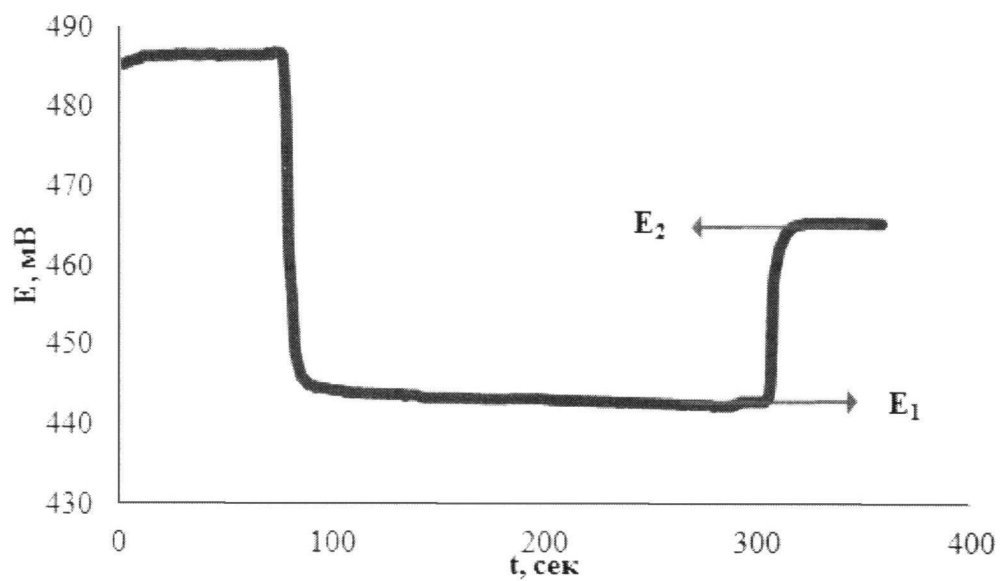
3. Способ по п.1, отличающийся тем, что в качестве окисленной/восстановленной формы реагента используют $K_3[Fe(CN)_6]$, $K_3[Mn(CN)_6]$, $K_3[Mo(CN)_8]$, $Fe(SCN)_3$, тетраэтиламмония гексацианоферрат (III), тетрабутиламмония гексацианоманганат (III), тетраэтиламмония тетрахлороферрат(III), Fe(III)-TPTZ, дикетонаты Fe(III), Ni(III), Co(III), $K_4[Fe(CN)_6]$, $K_4[Mn(CN)_6]$, $K_4[Mo(CN)_8]$, $[Fe(SCN)_2]$, тетраэтиламмония гексацианоферрат (II), тетраэтиламмония тетрахлороферрат(II), Fe(II)-PDT, Fe(II)-TPTZ, дикетонаты Fe(II), Ni(II), Co(II).



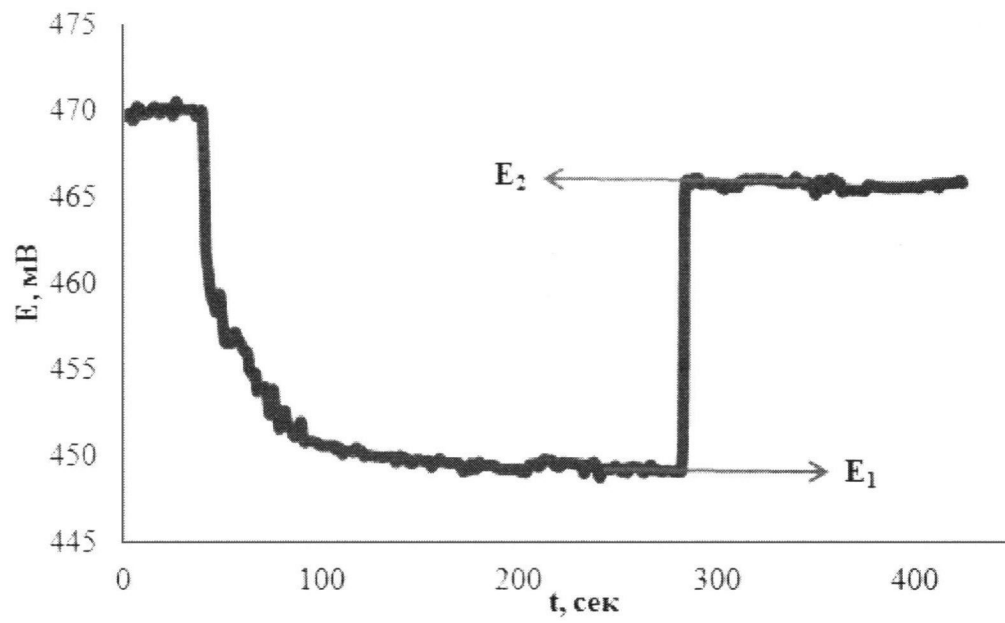
Фиг.1



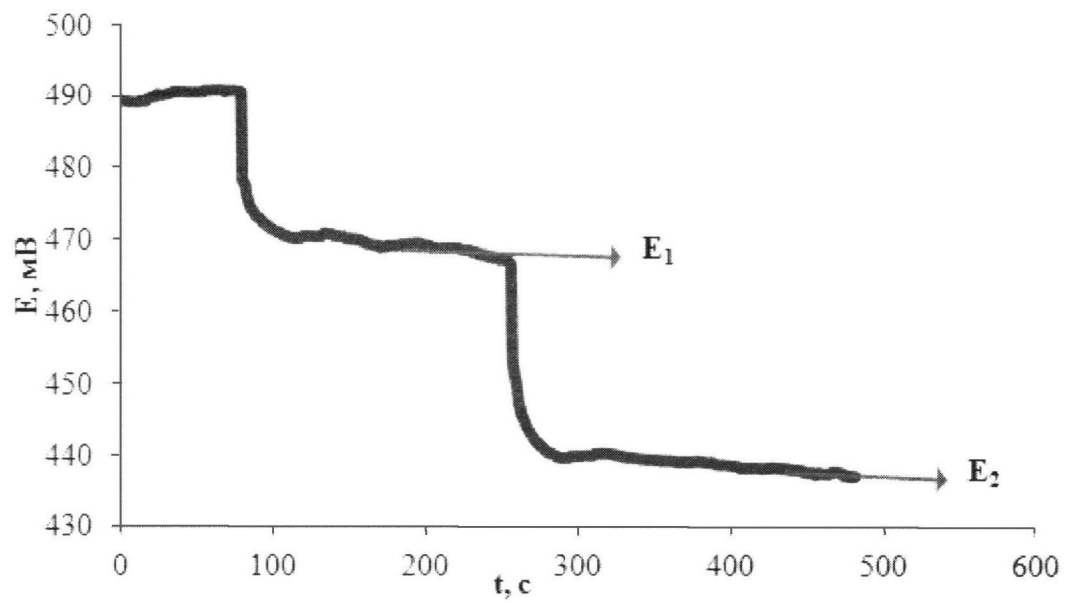
Фиг.2



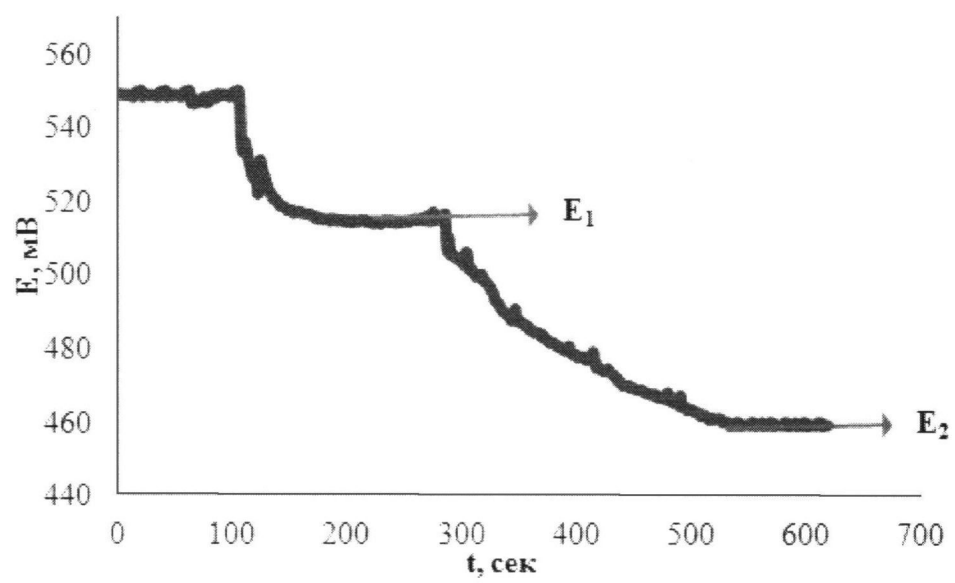
Фиг.3



Фиг.4



Фиг.5



Фиг.6